ARCHIVIO

PER LE

SCIENZE MEDICHE

PUBBLICATO DA

G. BIZZOZERO (Torino) — C. BOZZOLO (Torino) — P. FOÀ (Torino)
C. GIACOMINI (Torino) — C. GOLGI (Pavia) — L. GRIFFINI (Genova)
N. MANFREDI (Pisa) — E. MARCHIAFAVA (Roma) — A. MOSSO (Torino)
L. PAGLIANI (Roma) — E. PERRONCITO (Torino) — E. SERTOLI (Milano)
C. TARUFFI (Bologna) — G. TIZZONI (Bologna)

E DIRETTO DA

G. BIZZOZERO

Estratto

TORINO E PALERMO
CARLO CLAUSEN

FIRENZE - ERMANNO LOESCHER - ROMA

1893

ARCHIVIO PER LE SCIENZE MEDICHE. — Vol. XVII. N. 2.

Laboratorio di Istologia e Patologia generale
della R. Università di Pavia.

INTORNO ALLE PIASTRINE DEL SANGUE

DISSERTAZIONE DI LAUREA

DI

Cesare SACERDOTTI

I.

La preesistenza delle piastrine.

Nel 1882 il Bizzozero (1) esaminando il mesenterio di cavie e di altri piccoli mammiferi anestetizzati mediante iniezione peritoneale di idrato di cloralio e mantenendo durante l'esame le necessarie condizioni di temperatura e di umidità (con una doccia continua di soluzione di NaCl al 0,75 % a 37°-38° C.), servendosi di obiettivi ad immersione di acqua (VII Seibert) riscontrò che « a lato dei globuli rossi e dei « bianchi circola un terzo elemento morfologico. Esso è rap- « presentato da *piastrine* pallidissime a forma di disco a su- « perfici parallele o, più di rado di lente, ovali o rotonde; di « diametro uguale ad $^1/_3$ o $^1/_2$ di quello dei globuli rossi. Esse « sono sempre incolore, circolano irregolarmente tra gli altri « globuli, non dimostrano preferenza piuttosto per la porzione

(1) Bizzozero, « Ueber einen neuen Formbestandtheil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und Blutgerinnung » (*Central. für die med. Wiss.*, 1882; *Virch. Arch.*, vol. XC e Milano ed. Vallardi, 1883).

« periferica che per la porzione assiale della corrente. Sono « di regola isolate una dall'altra, il che non toglie che non « di rado si veggano riunite in ammassi più o meno grandi. « Ciò però è già un indizio di una loro alterazione ». Studiando poi il sangue fuori della circolazione con e senza speciali liquidi d'aggiunta, potè stabilire che esiste rapporto tra le sue piastrine e gli *ammassi granulari* degli antichi autori e gli *ematoblasti* di Hayem.

Nelle descrizioni del sangue degli osservatori che precedettero il Bizzozero, si trova qualche accenno alla possibilità che esista un terzo elemento morfologico, e le forme che destavano negli autori questo sospetto sono riferibili alle piastrine del Bizzozero. Infatti Donné (1) nel 1842 descrive nel sangue dei mammiferi estratto dai vasi i globuli rossi, i globuli bianchi e dei piccoli corpicciuoli globulari del diametro di $^1/_{300}$ di mm., pallidi, opalini; egli crede che derivino dal chilo (*globulins du chyle*) e che si riuniscano per formare i leucociti. Ad un terzo elemento morfologico del sangue accennano pure oscuramente Zimmermann (2), Henle (3), Kölliker (4), Beale (5). È fuori di dubbio che le *formazioni granulari* che M. Schulze (6) descrive nel 1865 corrispondano alle piastrine. Questo autore nel sangue di mammiferi parla di corpi rotondi, più piccoli dei globuli rossi, pallidi, che generalmente si vedono riuniti ad ammassi, ma di cui alcuno appare anche isolato, studiandoli chimicamente conclude trattarsi di corpicciuoli protoplasmatici, osserva un certo rapporto tra le rapide modificazioni che questi corpi subiscono e la coagulazione del sangue: non crede per altro si debbano ritenere elementi cellulari, ma un prodotto di distruzione dei leucociti. A granuli ed ammassi granulari nel sangue accennano pure

---

(1) Donné, *Compte rendu de l'Acad. des Sciences*, 1842, t. IV, p. 366.
(2) Zimmermann, *Zeitschrift f. Wissen. Zoolog.*, vol. VI, p. 344.
(3) Henle, « Anatomie des Menschen ».
(4) Kölliker, *Gewebelehre*, 1863, p. 630; 1867, p. 629.
(5) Beale, *Quart. journ. of microscop. science*, 1868.
(6) Schulze, *Arch. f. Mikrosk. Anat.*, vol. I, 1865, p. 36.

successivamente Bettelheim, Lostorfer, Nedsvetzki (1). Riess (2) studia questi ammassi in rapporto con diverse malattie, è d'accordo con Schulze circa la loro provenienza, ma non ammette il loro rapporto con la coagulazione, per ciò che secondo lui in istato sano tali forme possono anche mancare. A. Schmidt (3) ammette contribuiscano alla coagulazione e derivino, anche normalmente, dalla disaggregazione di quella varietà di leucociti grossolanamente granulosi, che secondo questo autore sarebbero forme di passaggio tra leucociti ed emazie. Della stessa opinione sull'origine degli ammassi granulari è Laptchinschy (4), che li descrive in aumento nelle malattie febbrili ed in diminuzione negli stati anemici. Osler e Schäfer (5) li mettono in rapporto coi batterî del sangue; successivamente Osler non insiste su questo rapporto, ma nega che derivino da distruzione di leucociti. Ne tratta poi Ranvier (6); non ammette che sieno prodotti di distruzione dei leucociti o delle emazie, crede debbano interpretarsi quali piccoli ammassi di fibrina, centri di irradiazione della coagulazione. Vulpian (7) poi ne descrive due varietà, una contrattile che egli pone in rapporto coi leucociti, una di forma discoide che pone in rapporto con le emazie. Dopo tali lavori si hanno intorno a questo argomento le numerose osservazioni di Hayem (8) che cominciano nel 1878 e che nel 1889 furono raccolte nella sua opera « Du sang ». È fuor di dubbio che questi lavori apportano un bel contributo allo studio di questo terzo elemento figurato del sangue. Egli suggerisce tecniche speciali per mettere in evidenza e studiare questo elemento e ciò è liquidi fissatori e conservatori: siero iodato, soluzioni di sali neutri (solfato di soda e di

---

(1) Nedsvetzki, *Centralbl. f. med. Wiss.*, 1873, p. 117.
(2) Riess, *Du Bois Reymond's Arch.*, 1872, p. 237-250.
(3) A. Schmidt, *Pflüger's Arch.*, vol. IX, p. 256.
(4) Laptschinscky, *Centr. f. med. Wiss.*, 1874, p. 657.
(5) Osler e Schäfer, *Centr. f. med. Wiss.*, 1873, p. 377.
(6) Ranvier, *Gaz. Méd. de Paris*, 1873, p. 93-94.
(7) Vulpian, *Gaz. Méd. de Paris*, 1873, p. 94.
(8) Hayem, « Du Sang ». Ed. Masson, Paris, 1889.

magnesia), un liquido simile a quello del Pacini (clor. di sodio 1, solf. di soda 5, sublim. corr. 0,05, acqua distill. 200), consiglia pure di esaminare il sangue appena uscito dai vasi senz'altro trattamento che una temperatura di circa 0° C, perchè a temperature superiori gli elementi del sangue rapidamente si alterano e primi tra questi i corpuscoli in parola che si riuniscono per costituire i così detti ammassi granulari. Colle sue osservazioni per altro Hayem non risolve punto la questione dell'esistenza di questo terzo elemento del sangue, per ciò che coi suoi studî non fa che perfezionare i reperti di M. Schulze: resta sempre il dubbio giustificato che gli elementi descritti sieno prodotti artificiali o postmortali e non forme preesistenti nel sangue circolante; tanto è vero che dopo i lavori di Hayem, Riess (1) dichiara che non si può essere sicuri dell'esistenza e del significato del terzo elemento morfologico del sangue che Hayem chiama *ematoblasto*, per certe sue idee che esamineremo in seguito, e Neumann (2) espone il sospetto che gli ematoblasti di Hayem sieno un prodotto di distruzione delle emazie.

Come appare da questa rapida esposizione storica prima dei lavori di Bizzozero si avevano intorno al terzo elemento morfologico del sangue delle nozioni molto vaghe; destano quindi meraviglia le acri parole che Hayem rivolge al Bizzozero nella prefazione del suo libro pubblicato nel 1889; con queste l'autore francese avanza dei diritti di priorità circa la dimostrazione delle piastrine nel sangue vivente, diritti che, secondo lui, il Bizzozero gli avrebbe ingiustamente disconosciuti. Del resto quasi tutti gli autori sono concordi nell'attribuire al Bizzozero il merito della scientifica dimostrazione del terzo elemento del sangue, che da tutti o quasi è chiamato col nome di *piastrine*, come l'indicò il Bizzozero.

Vediamo ora dopo i lavori del Bizzozero quali altre ricerche si fecero intorno a questo importantissimo argomento.

---

(1) Riess, *Berl. Klin. Woch.*, 1879, p. 696.
(2) Neumann, *Zeitschrift für Klin. Medic.*, vol. III, p. 411.

Cominciò Löwit (1) negando valore alle affermazioni del Bizzozero. Egli disse di aver trovato che le piastrine si dissolvono ad una temperatura di 40° C. e quindi non possono esistere nel mammifero vivente; in oltre all'esame fatto dal Bizzozero del sangue circolante fa l'osservazione che la semplice estrazione del mesenterio è sufficiente a determinare tale alterazione vasale da produrre la distruzione di molti leucociti e di qui la produzione delle piastrine. Alla prima opposizione di Löwit rispose Schimmelbuch (2) mettendo l'animale da esperimento in totalità in un bagno di 40° C. e più e trovando sempre le piastrine nella circolazione del mesenterio, osservato pure a tale temperatura: questo autore poi nello stesso lavoro dice di non aver mai visto prodursi nè dai leucociti nè dalle emazie, corpi neanche lontanamente riferibili alle piastrine. Alla seconda opposizione di Löwit rispose il Bizzozero (3) esaminando la circolazione nell'ala del pipistrello e trovando, fin dai primi momenti dell'esame, le piastrine.

Contro la preesistenza delle piastrine nel sangue dei mammiferi si schiera anche A. Mosso (4) che nelle sue numerose ricerche sul sangue fatte nel 1887 dice di non conoscere alcun liquido atto a conservare bene i corpuscoli rossi, la cui forma discoide da tutti ammessa non è fisiologica, ma indica già un inizio di disfacimento: egli ammette che i liquidi che si aggiungono per conservare il sangue agiscano sui globuli rossi più deboli facendoli scoppiare e ponendo così in libertà il nucleo (questo autore ammette che le emazie dei mammiferi sieno nucleate), talora circondato da frammenti di sostanza cellulare: questi nuclei così liberati, egli dice, sono quei corpi che furono detti ematoblasti da Hayem e piastrine dal Biz-

---

(1) Löwit, *Sitzungsber. der K. med. Acad. der Wiss.*, vol. 89, p. III, 1884.

(2) Schimmelbuch, *Virch. Arch.*, vol. CI, 1885.

(3) Bizzozero, *Gazz. degli ospitali*, 1884.

(4) A. Mosso, *Atti della R. Acc. dei Lincei*, Rend. anno CCLXXXIV, serie IV, vol. III, 1887.

zozero; quindi i lavori di Afanassiew (1) e del Fusari (2) circa il rapporto tra il numero delle piastrine e diversi stati morbosi hanno valore in quanto stabiliscono il rapporto tra globuli rossi deboli e malattie.

Queste idee del Mosso non furono accolte, ed io, per conto mio, ho potuto persuadermi della loro insostenibilità: basta esaminare il sangue circolante o nel mesenterio di cavie o nell'ala del pipistrello per vedere che le emazie hanno normalmente forma di lente biconcava; e basta ricorrere, come feci io, ad un trattamento che distrugga i globuli rossi e non le piastrine, per escludere che queste sieno il presunto nucleo di quelli. Io sottoposi una goccia di sangue all'azione di succo gastrico artificiale (acido cloridrico 1, pepsina 1, acqua distillata 100) e vidi coll'esame microscopico che prima nel campo erano numerosi globuli rossi, molte piastrine e qualche leucocito; poco dopo mentre queste piastrine e questi leucociti si facevano sempre più rifrangenti, i globuli rossi incominciavano a distruggersi, sciogliendosi senza lasciare al loro posto traccia alcuna di piastrine: questa distruzione procedeva tanto rapidamente che dopo circa dieci minuti nel campo microscopico non si vedevano più globuli rossi, ma frammenti di pigmento e leucociti e piastrine, molto rifrangenti nella loro porzione granulosa, di numero uguale a quello riconosciuto al principio dell'osservazione.

Un buon contributo al nostro argomento fu poi portato da Laker (3) nel 1889. Questo autore riprese le osservazioni del Bizzozero del 1884 e ne fece argomento di un accurato lavoro. Egli ha potuto studiare nell'ala dei pipistrelli la circolazione con grande comodità approfittando dei così detti *venenherzen* esistenti nell'ala dei volitanti, che determinano in certe regioni vasali dei fisiologici rallentamenti di corrente:

---

(1) Afanassiew, *Deut. Arch. f. klin. med.*, vol. XXXV, fasc. 3-4.
(2) Fusari, *Arch. p. le Scienze med.* Torino, vol. X, n. 12, 1886.
(3) Laker, *Virch. Archiv*, vol. CXVI, p. 28, 1889.

per le sue osservazioni si servì di obiettivi apocromatici e oculari compensatori. Egli trovò che le piastrine sono normalmente nel sangue dei vasi sanguigni, che il loro numero sorpassa quello dei leucociti ed è inferiore a quello dei globuli rossi.

Per combattere questo lavoro Löwit (1) nello stesso anno descrive questo processo che gli permette di osservare il sangue senza che venga in contatto coll'aria uscendo dai vasi, senza abbassamento di temperatura e senza che subisca, secondo lui, azioni meccaniche: egli riceve il sangue nell'olio di ricino e lo mantiene alla temperatura di 37° C. In queste condizioni i globuli rossi perdono l'emoglobina, ciò che rende la preparazione più trasparente ed allora non scorge elementi figurati riferibili alle piastrine. Dopo essersi ben assicurato che non esistono piastrine in un preparato così allestito, lo ricopre con un coproggetti e vede apparire numerosissime piastrine, che sono quindi prodotte, egli dice, dall'azione meccanica del vetrino. Anche abbassando la temperatura a 30°-35° C dice che le piastrine appaiono, e ne induce che esse non preesistono nel sangue, ma si formano a spese dei leucociti maltrattati meccanicamente o di cui si abbassi la temperatura. Rispondendo a Löwit, il Bizzozero (2) cominciò coll'osservare che l'olio di ricino non è per il sangue un liquido indifferente, spiega quindi così i reperti di Löwit: nell'olio di ricino il sangue si raccoglie a goccia e solo dopo un certo tempo (2'-3') si forma attorno un alone trasparente (Randzone), nel quale non si vedono che emazie e leucociti, ma le piastrine non sono nell'alone perchè nella goccia di sangue si sono già iniziati i fenomeni della coagulazione, per la presenza dell'olio che agisce come corpo straniero, e le piastrine sono impigliate nel reticolo fibrinoso: se si agita la goccia con un ago o con un filo si vedono comparire nell'alone le piastrine che si sono liberate dal reticolo e non, come dice

---

(1) Löwit, *Virch. Arch.*, vol. CXVII, p. 547, 1889.
(2) Bizzozero, *Arch. per le Scienze med.* Torino, vol. XV, n. 27, 1891.

Löwit, che si sono formate per l'azione meccanica. Del pari se si applica il vetrino sulla goccia e si fa pressione per renderla trasparente, le emazie ed i leucociti si liberano dal reticolo e corrono alla periferia e nel mezzo restano le piastrine fissate dagli intimi rapporti che hanno col reticolo fibrinoso e dalla loro viscosità: anche in questo caso l'asserzione di Löwit appare dunque infondata. Io poi ripetendo le esperienze di Löwit mi convinsi che l'olio di ricino, come pure la miscela di olio di ricino ed olio di mandorle usata da questo autore, ha un'azione deleteria su tutti gli elementi del sangue, non escluse le piastrine: avendo disposto il preparato in modo che le piastrine apparissero, cioè avendo premuto col coprogetti sulla goccia di sangue sospesa nell'olio, ho assistito ad una graduale diminuzione di rifrangenza delle piastrine fino alla completa scomparsa.

Nello stesso lavoro, Löwit, circa l'esame dell'ala dei pipistrelli, dice di aver qualche volta fatta questa ricerca inutilmente, ma confessa di non poter nulla affermare in proposito, perchè non ebbe a sua disposizione un numero sufficiente di animali da esperimento. Tuttavia per diminuire il valore del lavoro di Laker suppone che la distensione dell'ala possa ledere i vasi e quindi determinare distruzione dei leucociti. Ed a questa ricerca contrappone l'esame del mesenterio del ratto bianco, anestetizzato, immerso nella sua miscela di olio e trova che sul principio dell'osservazione non si vedono piastrine, che compaiono più tardi e non mai così numerose come se si usa la soluzione fisiologica di cloruro di sodio.

Il Bizzozero aveva giustamente osservato che male a proposito si poteva parlare di traumatismi nell'ala distesa, perchè questa distensione succede al pipistrello nell'atto di volare e perchè non è un fatto meccanico più grave di qualunque altro movimento dei vertebrati. Ciò non ostante io ho creduto opportuno rinnovare le esperienze del Bizzozero e di Laker evitando, come apparirà dall'esposizione che segue, per quanto mi fu possibile, la distensione e gli stiramenti dell'ala.

Ecco come mi disponevo per l'osservazione: ravvolgevo il

pipistrello in un po' di garza, quindi delicatamente stendevo l'ala che fissavo sul tavolino del microscopio applicando due dischetti di sughero sull'ala e fermandoli con dolcissima pressione coi ferma-preparati: avevo cura che i dischi non fossero fissati in corrispondenza dei vasi da cui partivano ed a cui arrivavano quelli della regione che esaminavo. La pressione a cui era sottoposta l'ala era tanto lieve che spesso dovevo interrompere l'osservazione per i movimenti dell'animale, ma preferivo mettere a cimento la mia pazienza piuttosto che compromettere in un modo qualunque il rigore della mia ricerca. Avendo avuto l'avvertenza di scegliere vasi superficiali e quelle porzioni che decorrono in corrispondenza dei punti meno pigmentati, mi fu facile, tanto nei capillari che nelle piccole vene, stante i ritmici rallentamenti determinati dai *venenherzen*, riconoscere la presenza delle piastrine che decorrono *più numerose* dei leucociti e che, appunto come disse il Bizzozero, *non hanno predilezione per la periferia o l'asse della corrente sanguigna*. E se Laker dice che esse prediligono nelle vene la periferia, il suo reperto, intorno alla cui esattezza non sollevo dubbio, me lo spiego o con un principio di alterazione vasale o col fatto che essendo la periferia quasi libera di elementi ivi è più facile vedere le piastrine. Nè questo è il solo fatto in cui io non mi accordi con Laker, perchè intorno alla forma delle piastrine, cosa molto importante, come vedremo in seguito, io servendomi ancora dei pipistrelli arrivai a conclusioni ben differenti. Egli sostiene che le piastrine sono biconcave, accordandosi così con Hayem, e a me non apparvero mai tali; ma invece di varia grandezza e di forma in generale rotonda e solo alcune elittiche od a grano di riso: io interpretai queste ultime quali piastrine viste di coltello. E per accertarmene ricorsi all'esame del sangue fuori dell'organismo aggiungendo liquidi fissatori che diminuissero la viscosità delle piastrine (ac. osmico 1 %, miscela sodo-metilica, soluz. di subl. corr. 1 % in clor. di sodio al 0,75 %); in questi preparati, stabilendo correnti, col semplice avvicinare un dito al vetrino coproggetti, vedevo talora le pia-

strine rotolare e in questi movimenti appariva chiaro che di coltello hanno aspetto elittico o di grano di riso. *Quindi le piastrine anzichè biconcave sono biconvesse.*

Dopo aver così controllato le ricerche del Bizzozero e di Laker, non ho creduto di dover ripetere l'esperimento di Löwit esaminando il mesenterio di ratto bianco in olio per questi due motivi: 1° Perchè il mesenterio del ratto si presta assai male allo studio della circolazione, decorrendo i vasi quasi tutti presso l'intestino e quindi in mezzo al tessuto adiposo. 2° Perchè il Bizzozero ha fatto vedere nel suo ultimo lavoro che, anche volendo accettare il reperto di Löwit, la non comparsa delle piastrine nei capillari si dovrebbe spiegare con l'alterazione che l'olio esercita sui grossi tronchi vasali, alterazione determinante l'arresto delle piastrine (trombosi).

Contemporaneamente all'ultimo lavoro del Bizzozero, Löwit pubblicava (1) altre sue ricerche in cui confermava che le piastrine non preesistono ma sono corpi che precipitano per difetto di tecnica. Egli dice che il cloruro di sodio in soluzione del 12-25 % non scioglie le piastrine, e questo è vero, e che raccogliendo il sangue in modo che arrivi in questa soluzione senza contatto con l'aria, non vi si possono vedere che scarsissime piastrine. Ecco come procede nella sua ricerca: egli lega alla carotide di un mammifero una larga cannula, ripiena di soluzione al 20 % di cloruro sodico, che sbocca in un vaso di vetro contenente la stessa soluzione, di mano in mano che il sangue arriva nel vaso è agitato per ottenere un intimo miscuglio senza contatto con l'aria. Or bene io credo che questa ricerca non abbia alcun valore: le piastrine sono elementi molto viscidi e che anche per piccole lesioni vasali si arrestano sull'intima costituendo il trombo; basta che si inizi l'arresto di qualche piastrina perchè tutte le altre vi si sovrappongano, fatto questo che, come già dimostrò il Bizzozero si può presenziare al microscopio; ora, il traumatismo che si esercita sulla carotide per l'introduzione di una can-

(1) Löwit, *Centralbl. f. Allg. Path. u. path. An.* 1891, n. 25.

nula è tale da non lasciar dubbio sulla causa della scarsità od assoluta mancanza delle piastrine nel miscuglio di Löwit. Io invece, in modo molto più semplice, dopo aver accuratamente pulito il polpastrello di un dito umano o l'orecchio di un mammifero qualunque, depositavo una goccia di soluzione di clor. sodico al 20 % e attraverso a questa, con una taglientissima lancetta, facevo uscire il sangue: è chiaro che così ottenevo il miscuglio che desidera Löwit senza il contatto dell'aria; ebbene in questo miscuglio *le piastrine si presentano numerose quanto con gli altri metodi di ricerca;* ma certo conviene fare l'osservazione con rapidità, perchè in tale liquido le piastrine si alterano presto. Merita poi appena di essere menzionato il dubbio di Löwit che il Bizzozero scambi per piastrine certi frammenti di globuli rossi, poichè questi sono colorati con emoglobina e si sa che il Bizzozero sostenne sempre che le piastrine non sono colorate.

Anche Welti (1) in un lavoro sulla causa di morte per scottatura ammette che le piastrine non sieno preesistenti, ma prodotte dalla distruzione dei globuli rossi. Arriva a questa conclusione dall'esame del sangue degli animali soccombenti per scottatura; facendo dei preparati a secco di sangue della regione lesa, trova grandemente aumentata la proporzione delle piastrine, specialmente in confronto ai globuli rossi, che sono anche alterati nella loro forma. Ma il Salvioli (2) in un successivo lavoro sullo stesso argomento esamina il mesenterio al microscopio, determinando su questo delle scottature e può così assistere ai fenomeni che si presentano, vede cioè che nei vasi scottati le piastrine si accumulano a costituire dei trombi, da cui si staccano emboli; ecco quindi spiegata l'aumentata proporzione delle piastrine trovata da Welti; esaminando poi il sangue dell'animale scottato, togliendolo non dalla regione scottata, trovò naturalmente il numero delle piastrine diminuito.

---

(1) Welti, *Ziegler's Beiträge*, vol. 4°, p. 520.
(2) Salvioli, *Arch. p. le scienze med.* Torino, vol. XV, n. 12, 1891, e *Virch. Arch.*, vol. CXXV, p. 364.

Inoltre il Salvioli osservò che esperimentando su cani a sangue defibrinato, e quindi privato delle piastrine, col metodo suggerito dal Bizzozero, mancavano i fenomeni di embolismo polmonare appunto perchè mancavano le piastrine; quindi l'animale sopravviveva. Da questi esperimenti è evidente che le piastrine non derivano affatto dalla distruzione dei globuli rossi.

Da ultimo con ricerche microchimiche Lilienfeld (1) nel laboratorio di Kossel arrivò alle stesse conclusioni di Löwit; proponendosi questi due quesiti: qual'è la composizione chimica delle piastrine dei mammiferi, d'onde provengono. Inizia l'esposizione delle sue ricerche, riferendo le modificazioni che subisce il sangue umano digerito in succo gastrico artificiale: dopo un po' di tempo nel preparato non si vedono che leucociti e piastrine, le quali si modificano poi in modo da differenziarsi in una porzione finamente granulosa che si fa sempre più brillante ed in una omogenea opalina. Cimenta poi le piastrine con molte altre sostanze (soluz. saline diverse, alcool, etere, benzolo....) ed ottiene dalla porzione granulosa le reazioni della nucleina anche di fronte alle materie coloranti (verde di metile). Per questo egli conclude che le piastrine constano di nucleina (*Nucleinplättchen*) e che la parte omogenea è albumina: queste due sostanze sono normalmente allo stato di vera combinazione chimica (nucleoalbumina) solubile in acido acetico concentrato e scomponibile in nucleina e albumina dall'ac. acetico in soluzione tenue. Egli poi nota le identiche modificazioni, coi diversi trattamenti chimici, nel nucleo dei leucociti, solo qui i granuli di nucleina sono più grossi. Per questa identità chimica tra piastrine e nuclei di leucociti sospetta già che quelle derivino da questi e per dimostrare questa dipendenza ricorre al seguente esperimento: monta un preparato di siero di cavallo filtrato, lo esamina bene e si convince che non esistono in esso forme riferibili a

(1) Lilienfeld, *Verhand. der Phys. Gesellsch. zu Berlin*, 1891-92, n. 1, 23 ottobre 1891.

piastrine, pone vicino al preparato una goccia di sperma di maiale, gli spermatozoi si precipitano nel siero e dopo brevissimo tempo egli vede questi nemaspermi distruggersi e dar luogo a piccole forme rotonde, molto simili d'aspetto alle piastrine del sangue e che ne hanno tutte le sezioni chimiche. Questo, egli dice, dimostra che i nuclei, poichè i nemaspermi constano essenzialmente di nucleina, nel siero di sangue si cambiano in corpicciuoli identici alle piastrine; quindi le piastrine non sono veri elementi morfologici, ma semplici derivati dalla distruzione dei leucociti.

Pure apprezzando la diligenza delle ricerche microchimiche di Lilienfeld, devo far osservare che la differenziazione delle piastrine in due sostanze una granulosa ed una omogenea era già stata descritta dal Bizzozero, da Hayem, dal Fusari, anzi che dal Mondino (1) la parte granulosa era stata riconosciuta per nucleina, modificantesi secondo lui nel processo di riproduzione delle piastrine. Io poi ho più volte cercato di riprodurre l'esperimento di Lilienfeld intorno alla produzione delle piastrine dallo sperma. Non ho potuto avere sperma di maiale, ma credo di essermi messo nelle stesse condizioni servendomi di sperma di cavallo, di asino e di coniglio: ho ripetuto esattamente il metodo descritto da Lilienfeld ed ho controllato le mie ricerche servendomi anche di siero umano. Or bene *non vidi mai distruggersi i nemaspermi e prodursi piastrine;* solo dopo qualche minuto una parte dei nemaspermi perde la coda, ma le teste conservano poi perfettamente la loro forma tanto che non credo possibile confondere queste teste con piastrine. Io conservo ancora dei preparati di sperma di giovane cavallo montati in siero di cavallo e di uomo fino dal 19 maggio: in questi preparati la maggior parte dei nemaspermi è integralmente e perfettamente conservata e si vedono inoltre numerose caratteristiche teste di nemasperma, ma nessuna forma che possa riferirsi a piastrine. Io non so se

(1) Mondino, « Sulla genesi e sullo sviluppo degli elementi del sangue nei vertebr. ». Palermo, 1888.

Lilienfeld si sia servito di sperma estratto dai testicoli, dagli epididimi, dalle vescichette seminali, o procurato mediante eiaculazione sperimentale; io mi servii sempre di sperma estratto dall'epididimo ed il materiale che usai era freschissimo tanto che i nemaspermi si presentavano vivacissimi; credo anzi opportuno notare che tanto in siero di cavallo che in siero umano qualche nemasperma si presentava in movimento anche 24 ore dopo allestito il preparato. Nelle descrizioni istologiche dello sperma si notano oltre i filamenti spermatici e cellule epiteliali, dei piccoli globi pallidi, di cui fino ad ora non si è data spiegazione, di aspetto più omogeneo che le piastrine, anzi per questo più ravvicinabili alla porzione espansa assottigliata della testa del nemasperma: si potrebbe forse supporre che fossero queste le imagini notate da Lilienfeld e da lui descritte per piastrine, ma resterebbe sempre inspiegata la scomparsa dei nemaspermi che io non ho mai potuto verificare. Voglio anche ammettere che tale scomparsa sia una caratteristica dei nemaspermi del maiale, cosa per quanto molto strana, certo non impossibile; voglio ammettere che scomparendo dieno luogo, anzi si modifichino in corpicciuoli di nucleoalbumina simili alle piastrine; con questo fatto specialissimo si può dire addimostrato che le piastrine del sangue dei mammiferi sono dovute a distruzione di nuclei di leucociti? Io credo di no! Per ammettere questo bisognerebbe assistere al cambiamento di questi nuclei in piastrine, cosa che non fu mai nemmeno lontanamente intravveduta nè da Löwit, nè da Lilienfeld.

In conclusione io credo si possa affermare che le artificiose ricerche di Löwit e di Lilienfeld non reggano di fronte ai numerosi, scrupolosi lavori sperimentali del Bizzozero e de' suoi sostenitori e che quindi *la preesistenza delle piastrine nel sangue dei mammiferi sia pienamente provata.*

Ma in appoggio di questa preesistenza sta anche l'anatomia comparata. Nei vertebrati inferiori (uccelli, rettili, anfibî e pesci) che hanno globuli rossi nucleati, oltre questi ed i leucociti, già da Rechlinghausen, Golubew ed altri furono

osservate nel sangue delle *cellule non colorate fusiformi con nucleo ovale*, che quindi si distinguono dagli altri elementi. Esse furono dal Bizzozero dimostrate corrispondenti alle piastrine dei mammiferi. In fatti esse sono fornite di protoplasma pallido non perfettamente omogeneo che abbiamo visto caratteristico delle piastrine dei mammiferi: come queste sono molto facilmente alterabili, viscose, aderiscono facilmente ai vetri dei preparati e tra di loro, è quindi molto frequente trovarle raggruppate ad ammassi di vario volume. Gli stessi reagenti che conservano le piastrine dei mammiferi conservano anche questi elementi e le modificazioni che ne inducono sono pure uguali: così per un certo tempo si conservano nella soluzione sodo-metilica del Bizzozero, in ac. osmico all'1 %, in sublimato corros. all'1 %, nel liquido del Pacini modificato da Hayem, ecc. L'azione prolungata della miscela sodo-metilica e così pure dell'acqua distillata, di soluzioni tenui di acido acetico, ecc. determinano la fuoruscita di semisfere pallidissime tanto nelle cellule in parola, come nelle piastrine dei mammiferi: in fine come vedemmo per queste anche esse resistono all'azione del succo gastrico artificiale, acquistando pure in rifrangenza. L'identità di questi elementi colle piastrine dei mammiferi fu riconosciuta anche da Hayem, che li chiamò pure ematoblasti.

Ora io non credo sia da porre in dubbio che questi elementi, queste piastrine sieno vere cellule, per ciò che al Mosso, che ne' suoi citati lavori disse che pur esse sono i nuclei dei globuli rossi che circondati da un po' di protoplasma hanno abbandonato il globulo, si può far osservare che l'aspetto del nucleo delle piastrine è affatto dissimile da quello delle emazie e che diversamente si comporta anche di fronte alle materie coloranti: il verde di metile, per esempio, imparte al nucleo dei globuli rossi, anche liberati dall'emoglobina mediante ac. acetico, un color verde cupo, a quello delle piastrine un bel colore verde-smeraldo.

Provato quindi che le piastrine dei vertebrati ovipari sono vere cellule, *mi pare sia lecito supporre che sieno vere cel-*

lule anche le piastrine dei mammiferi. Anche per quanto riguarda i fenomeni della trombosi e della coagulazione la corrispondenza tra le piastrine dei mammiferi e quelle nucleate dei vertebrati ovipari è perfetta.

II.

Le piastrine rispetto all'origine dei globuli rossi.

Ammessa la preesistenza delle piastrine nel sangue circolante, concesso che queste sono vere cellule, si può ancora fare questa domanda: sono esse elementi indipendenti o sono stadî di sviluppo di altre cellule?

Abbiamo già veduto che Hayem chiama le piastrine ematoblasti perchè egli crede che si cambino gradatamente in globuli rossi. Egli appoggia la sua ipotesi a questi argomenti: la forma delle piastrine tanto nei mammiferi che nei vertebrati ovipari è simile a quella dei globuli rossi; come questi le piastrine, se non tutte, in gran parte contengono emoglobina; nel sangue si notano forme di passaggio tra le piastrine e le emazie (i microciti); nelle malattie del sangue si vedono aumentare di numero nel periodo in cui il sangue tende a rigenerarsi (crisi ematoblastica). Il Bizzozero osserva che non è vero che ci sia identità di forma tra piastrine ed emazie; osserva che le piastrine sono molto più alterabili che i globuli rossi ed hanno una caratteristica viscosità; osserva che in preparati ben fatti, come in circolazione, le piastrine non appaiono mai colorate da emoglobina, ed in fine che il rapporto tra periodo di rigenerazione dei globuli rossi ed aumento di piastrine non è costante e quindi non vale a sostenere l'ipotesi di Hayem. Le numerose ricerche fatte in seguito da varî autori stanno quasi tutte contro Hayem; anche ultimamente Schiefferdecker (1) dice di non aver mai visto piastrine di

(1) Schiefferdecker und Kossel, « Gewebelehre », Braunschweig, 1891.

mammifero biconcave e colorate da emoglobina; ed anche dalle mie ricerche abbiamo visto che le piastrine anzichè biconcave sono biconvesse. Quello poi che toglie assolutamente valore all'asserzione di Hayem è la composizione chimica delle piastrine, che constano essenzialmente di nucleina e nei globuli rossi di nucleina non ce n'è traccia.

Ma Hayem tuttavia continua a sostenere la tesi anche dopo che Bizzozero ebbe dimostrato l'esistenza di globuli rossi in cariocinesi anche durante la vita extrauterina nel periodo di rigenerazione del sangue (1). Hayem non nega questo reperto, ma dice che un simile modo di riproduzione delle emazie è eccezionale, dovuto ad un estremo sforzo di rigenerazione sanguigna nelle anemie profondissime. Per altro si comprende che il suo convincimento è alquanto scosso per ciò che in fine del suo capitolo sulla rigenerazione del sangue, conviene che in certi mammiferi, specialmente nelle cavie, la riproduzione per globuli rossi nucleati è più accentuata e più importante che nell'uomo.

Dopo che il Bizzozero (2) e Neumann (3) indipendentemente uno dall'altro, dimostrarono nel midollo delle ossa dei mammiferi globuli rossi nucleati e in scissione, ci fu chi volle ammettere che questi fossero uno stadio di passaggio tra i leucociti e le emazie, insistendo sull'antica idea di Warthon Jones (4), di Erb (5), di Kölliker che le emazie derivano dai leucociti. Vulpian (6) nel sangue delle rane salassate descrive delle cellule bianche che non hanno moti ameboidi, che accennano a diventare elittiche e che caricandosi gradatamente di emoglobina diventano emazie. Pouchet (7) è pure di questa opinione. Renaut (8) descrive tutte le forme

(1) Bizzozero, « Sulla produzione dei globuli rossi del sangue nella vita extrauterina ». Torino, 1881.
(2) Bizzozero, *Gazz. med. it. lomb.*, 1868.
(3) Neumann, *Cent. f. m. Wiss.*, 1868.
(4) Warthon Jones, *Philos. Transact.*, 1846.
(5) Erb, *Virch. Arch.*, vol. XXXIV, 1865.
(6) Vulpian, *Compt. rendu*, vol. LXXXIV, 1877.
(7) Pouchet, *Gaz. med. de Paris*, 1878, n. 11.
(8) Renaut, *Arch. de physiol. norm. et path.*, vol. 8°, 1881.

di passaggio tra leucociti ed emazie nella lampreda e nell'embrione di montone. Del medesimo parere sono pure Obrastzow (1) e Rindfleisch (2), il quale descrive le forme di passaggio negli uccelli. Neumann che da prima sosteneva questa evoluzione, più tardi se ne mostra poco persuaso. Ma il Bizzozero in collaborazione anche col Torre (3), dimostrando la cariocinesi delle emazie nucleate dei mammiferi e di quelle degli uccelli, fece vedere come fosse inutile imaginare una evoluzione dei globuli rossi dai leucociti, e che invece in tutti i vertebrati i globuli rossi derivano da cellule colorate, per quanto poco intensamente, dall'emoglobina. L'indipendenza morfologica tra leucociti ed emazie è accettata poi da tutti, salvo poche eccezioni (Oehl (4), Feuerstack (5), Aly e Eberth (6)).

Löwit (7) per altro crede che pure essendo indipendenti dai leucociti, i globuli rossi derivino per cariocinesi da cellule incolore, che egli chiama *eritroblasti*, per distinguerli dai *leucoblasti* che originerebbero i leucociti per scissione *diretta* del nucleo. Ma poichè Flemming (8) dimostrò l'esistenza di cellule bianche in cariocinesi anche negli organi linfatici (milza, follicoli solitarî dell'intestino, ecc.), Löwit fu costretto, per sostenere le sue idee, ad ammettere che anche in questi organi si riproducano globuli rossi. In un lavoro sul midollo delle ossa dei piccioni sani ed anemizzati, Denys (9) accetta la distinzione di Löwit dei leucoblasti e degli eritroblasti ed è d'accordo con lui circa l'assenza di emoglobina negli eritroblasti, ma dice che anche i leucoblasti si moltiplicano per cariocinesi. Hayem dice che gli eritroblasti di questi

---

(1) Obrastzow, *Centr. f. d. m. Wiss.*, 1879.
(2) Rindfleisch, *Arch. f. Mikroskop. Anat.*, vol. XVII, 1880.
(3) Bizzozero e Torre, *Virch. Arch.*, XCV, 1884.
(4) Oehl, « Trattato di Fisiologia », Pavia, 1883.
(5) Feuerstack, *Zeitsch. f. wiss. Zool.*, vol. XXXVIII, 1883.
(6) Aly und Eberth, *Forts. der Med.*, vol. III, 1885.
(7) Löwit, *Sitzb. d. k. Acad. z. Wien.*, vol. XCII, serie III, 1885.
(8) Flemming, *Arch. f. mikr. Anat.*, vol. XXIV, 1885.
(9) Denys, « La Cellule », vol. IV, 1887.

autori corrispondono ai suoi ematoblasti e quindi alle piastrine. Ma il Bizzozero (1) dimostrò che la mancanza di colore notata da Denys negli eritroblasti del piccione doveva attribuirsi a difetto di fissazione e di colorazione e che inoltre probabilmente Denys descrive per eritroblasti anche dei leucoblasti, tratto in errore dal preconcetto che tutti i leucociti contengano i caratteristici corpicciuoli bacilliformi eosinofili, e invece ci sono negli uccelli varietà di leucociti senza questi corpicciuoli. È quindi probabile che le forme di passaggio tra le piastrine e le emazie, notate da Hayem negli ovipari, sieno appunto questi eritroblasti che sono scarsamente impregnati di emoglobina.

L'anno scorso il Mazzoni (2) nel Laboratorio dell'Albertoni studiò i processi di sanguificazione degli uccelli e dei batraci, anemizzandoli con la pirodina. Egli conclude il suo lavoro dicendo che le piastrine si devono in questi animali considerare con Hayem ematoblasti; per ciò che durante l'amministrazione della pirodina nel sangue de' suoi animali egli notava grande diminuzione nel numero delle emazie e grande aumento in quello delle piastrine; sospendendo l'amministrazione a poco a poco vedeva aumentare le emazie e corrispondentemente diminuire le piastrine. Ma egli dice che « le piastrine sono di due varietà: le une più piccole, incolore, ripetono la forma dei globuli rossi, le altre un po' più grandi hanno figura ora elittica, ora rotonda e posseggono costantemente il loro protoplasma colorato con l'emoglobina ». Ed aggiunge che sono *queste ultime principalmente che subiscono le accennate variazioni numeriche*. Ora la descrizione di queste corrisponde perfettamente a quella che il Bizzozero dà degli eritroblasti che in fine sono uguali alle emazie giovani. Quindi il lavoro del Mazzoni che secondo lui appoggia le idee di Hayem, mi pare appoggi invece quelle del Bizzozero.

---

(1) Bizzozero, *Atti della Reale Accad. di Torino*, 1889.

(2) Mazzoni, *Boll. delle Scienze mediche di Bologna*, anno LXII, serie VII, vol. II, fasc. 7°, 1891.

Io poi, allo scopo di controllare i lavori di Mondino e Sala (1), che descrissero uno speciale processo di cariocinesi atipico nelle piastrine degli anfibî, ho tentato una serie di ricerche ed esperienze sull'ematopoiesi, servendomi di animali ovipari adulti, specialmente rane e tritoni, sani ed anemizzati e di embrioni di pollo. Le mie ricerche furono numerose, ma i reperti riguardo alle piastrine negativi; per altro non credo inopportuno citare certi fatti da me osservati nel midollo delle ossa delle rane in condizioni normali di salute. Ecco la tecnica che seguii in questi casi: disarticolai il femore, ne tagliai le due estremità e facendo pressione da una parte nel lume midollare feci protrudere dall'altra il midollo, che strisciai rapidamente su un coproggetti; lasciai essicare il preparato così ottenuto esponendolo per 1′ circa ai vapori di acido osmico, colorai coi diversi metodi suggeriti per differenziare gli elementi contenenti emoglobina; quelli che mi corrisposero meglio sono i seguenti: 1° ematossilina di Delafield in soluzione allungatissima 24^h, indi pochi minuti in alcool assoluto con tracce di acido picrico; 2° azione successiva per pochi minuti dell'eosina di Moore e del bleu di metylene di Löffler; 3° il metodo suggerito da Gram per microrganismi. Nei molti preparati che ho fatto ho sempre veduto molto scarse le piastrine, in taluni non ne vidi affatto, e mai vidi forme di queste accennanti a cariocinesi, quindi credo di poter escludere che le piastrine abbiano nel midollo delle ossa delle rane un centro di formazione. Vidi invece sempre numerose forme cariocinetiche di leucociti tanto della varietà grande che piccola, ed inoltre parecchi globuli rossi in tutti i principali stadî di cariocinesi, e *sempre con la sostanza cellulare impregnata da emoglobina*. Questi miei reperti servono intanto a dimostrare come sbagli chi ammette che le emazie si riproducano da cellule bianche, inoltre servono a rispondere ad Hayem, che nel suo ultimo lavoro dice che la riproduzione del sangue

(1) Mondino, loco cit. e Mondino e Sala, « Sulla produzione delle piastrine nel sangue dei vertebrati ovipari », Palermo, 1888.

nei vertebrati inferiori nel midollo delle ossa è lontano dall'essere dimostrata. Nei miei casi poi Hayem non potrebbe dire che le emazie entrano in attività riproduttiva solo negli estremi stati anemici, per ciò che le mie rane erano appena state raccolte, erano vivacissime e presentavano sangue in abbondanza con proporzione normale degli elementi.

Pavia, Giugno 1892.